

## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医博甲第 2452 号 氏名 谷本 梓  
論文審査担当者 主査 鈴木 健之  
副査 中尾 眞二  
源 利成



### 学位請求論文

題 名 ALK 融合遺伝子陽性肺癌においてリガンド依存性バイパスシグナルが Alectinib 耐性を惹起し、Hsp90 阻害薬はその耐性を克服する

掲載雑誌名 Oncotarget 2014 年掲載予定

近年、肺癌において強い癌化能を有する体細胞変異であるドライバー変異が複数報告されている。EML4-ALK 融合遺伝子は第2染色体短腕内に微小な逆位が起こることで生じるドライバー変異であり肺癌の4~5%に認める。現在第一世代ALK阻害薬であるCrizotinibが臨床で用いられているが、約一年以内に多くの症例が耐性化する。Crizotinib耐性化機序の一つにALK内のロイシンがメチオニンに置換する二次変異(L1196M)があり、AlectinibはL1196M変異を阻害する次世代ALK阻害薬である。AlectinibはALK肺癌患者を対象とした第I/II相試験において高い奏効率と忍容性を認め、2014年7月に製造販売承認された。しかし、Alectinibに対する耐性化の分子機構は未だ不明である。一方、他にALK肺癌に対する薬剤として有望視されているのがHeat shock protein 90 (以下Hsp90)阻害薬である。Hsp90は200種類以上のタンパク(以下クライアントタンパク)が翻訳後にフォールディングすることを助け、機能を維持する役割を果たす。クライアントタンパクにはALKを含むがんの生存・増殖に関わるタンパク質が多く含まれ、Hsp90阻害により複数の標的分子が抑えられる。以前我々はEGFR遺伝子変異肺癌においてEGFR阻害薬に対してHGFによるバイパスシグナルが誘導する耐性をHsp90阻害薬である17-DMAGで克服することを明らかにした。

以上の背景をもとに今回ALK肺癌におけるAlectinib耐性の分子機構を明らかにするためにHGFやEGFRリガンドによるバイパスシグナルで耐性が誘導されるかを検討した。そして、その耐性をHsp90阻害薬で克服できるかを検討した。まずALK肺癌株であるH2228、H3122を用いてHGFおよびEGFRリガンドの刺激を受けた細胞株に対するAlectinibの効果を調べた。その結果、HGFおよびEGFRリガンドによりAlectinibの耐性が誘導されることが明らかとなった。また、HGFを産生するALK肺癌細胞株を作成し同様の実験を行ったところAlectinibへの耐性を示した。次にHsp90阻害薬がその耐性を克服できるか検討したところHGFおよびEGFRリガンドのparacrine、HGFのautocrine下においても耐性を抑制した。さらにAlectinibの耐性化における下流のシグナルの発現をWestern blotting法で解析し、Hsp90阻害薬がHGFおよびEGFRリガンドの存在下においてもALK、MET、EGFR、AKTの発現を抑制することが示された。17-DMAGが細胞死を誘導しているか確認するためアポトーシスを確認したところ、HGFの存在下においても17-DMAGはアポトーシスを誘導した。

本研究は、次世代ALK阻害薬であるAlectinibに対するリガンドが惹起する耐性をHsp90阻害薬が克服することを示唆し、ALK肺癌患者の予後の延長に寄与する可能性を示すもので、学位に値する労作と評価された。